Aus der hygienisch-bakteriologischen Abteilung der Militärärztlichen Akademie, Berlin
(Leiter: Oberstarzt Dr. med. Brekenfeld)

# Ein Beitrag zu dem Thema: Der Einfluß der Umgebungstemperatur auf die Bakterienflora bei Versand von Trinkwasserproben

*Inaugural-Dissertation*

zur

Erlangung des

*Medizinischen Doktorgrades*

an der

Friedrich-Wilhelms-Universität

zu Berlin

vorgelegt von

Karlheinz Kinscher

aus Wilhelmshaven

Marineassistenzarzt

Tag der Promotion: 1. 3. 1940.

Druck: Karl u. Richard Hoffmann, Charlottenburg, Schillerstr. 44.

M 478

Gedruckt mit Genehmigung

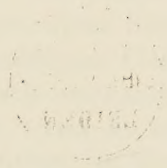
der

Medizinischen Fakultät der Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. L. Kreuz
Referent: Doz. Dr. Brekenfeld
Korreferent: Prof. Dr. Zeiß

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen lieben Eltern



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550812_0040

Seit Bestehen der Welt spielt die Versorgung mit Trinkwasser im menschlichen Leben eine große Rolle. Solange wir Geschichte der Völker kennen, wird der Trinkwasserversorgung ständige Sorge zuteil. Erinnern möchten wir nur an die gewaltigen Anlagen des Altertums, z. B. die in Pergamon, an die berühmte Zysterne in Byzanz, an die teilweise noch heute in Gebrauch befindlichen Wasserleitungen des alten Roms. Eine geradezu ausschlaggebende Rolle spielt die Trinkwasserversorgung, abgesehen von Zeiten des Krieges und bei innerem und äußerem Aufruhr eines Landes, im militärischen Leben. Ein Kommandeur, der seine Truppe nicht zu jeder Zeit mit der genügenden Menge Trinkwasser versorgen kann, ist von vornherein zum Mißerfolg in allen seinen Unternehmungen verurteilt.

Die Hauptforderung, die wir an Trinkwasser stellen, ist die Keimarmut und das Freisein von allen pathogenen Keimen. Solange wir das Wasser dem Leitungsnetz einer Stadt entnehmen, ist dieser Zustand nahezu garantiert, denn das Wasser einer zentralen Trinkwasserversorgung ist infolge der im allgemeinen hygienisch unbedenklichen Anlage und der regelmäßigen Ueberwachung durch Bakteriologen für gewöhnlich einwandfrei. Man hält Trinkwasser für einwandfrei, wenn es keine pathogenen Keime und Colibakterien, höchstens in geringer Zahl, enthält und die Keimzahlen in einem ccm Hundert nicht überschreiten.

Anders ist es, wenn wir unseren Trinkwasserbedarf aus Pumpen, Ziehbrunnen u. a. decken müssen. Vor diese Notwendigkeit werden wir im militärischen Leben oft gestellt, in Friedenszeiten im Manöver und bei Truppenübungen der verschiedensten Art, im Kriege bei Unbrauchbarwerden der zentralen Wasserleitung. Im Felde und in der Aufbauarbeit in den Kolonien haben wir sogar oft durch Bohrung eines neuen Brunnens für die erforderlichen Mengen von Trinkwasser zu sorgen. Nun ist es nicht ratsam, klar und rein erscheinendes Wasser, selbst wenn es aus großer Tiefe geschöpft wird, ohne weiteres als Trink-

wasser freizugeben. Ein Sanitätsoffizier wird nur aus zwingenden Gründen die Verantwortung auf sich nehmen können, neuerschlossenes oder ihm unbekanntes Wasser ohne genaueste chemische und vor allem bakteriologische Untersuchung zu Trinkwasserzwecken freizugeben. Ist der verantwortliche Sanitätsoffizier nicht in der Lage, an Ort und Stelle die Untersuchung des Wassers vorzunehmen, was wohl in den meisten Fällen daran scheitern wird, daß es ihm an den Apparaten und Hilfsmitteln für eine genaue Untersuchung gebricht, so ist er gezwungen, Proben zu entnehmen und sie an ein Untersuchungsamt einzusenden. Die Zeit vom Augenblick der Entnahme bis zur Untersuchung kann nun wenige Stunden oder mehrere Tage umfassen. Da erhebt sich nun die Frage: wie ändert sich die Bakterienzahl im Wasser auf diesem Transport? Welchen Einfluß hat die Umgebungstemperatur bei dem Versand auf das Bakterienwachstum?

Aufgabe dieser Arbeit ist es, sich mit diesen Fragen zu beschäftigen, denn nur dann hat die Untersuchung und Beurteilung von Wasser einen Wert, wenn wir die Gewähr haben, daß wir auch tatsächlich das Wasser in seinem Ursprungszustand untersuchen, oder — sofern das nicht möglich ist — wenn wir die Fehler kennen und in Rechnung stellen, die wir in Kauf nehmen müssen.

Man kann diese Untersuchung nun so durchführen, daß man von $0^0$ bis $50^0$ C bei den verschiedenen Temperaturen die jeweiligen Einflüsse, d. h. also die Veränderung der Keimzahl, feststellt. Aus praktischen Erwägungen heraus haben wir uns in der vorliegenden Arbeit darauf beschränkt, 3 Temperaturstufen, die uns von besonderer Bedeutung erschienen, herauszugreifen, und zwar die „Kühlschranktemperatur" ($2^0$—$4^0$ C), die „Zimmertemperatur" ($22^0$—$24^0$ C) und die „Brutschranktemperatur" ($37^0$ C).

Um zunächst einmal einen Einblick zu gewinnen, wie die Bakterienflora im Wasser auf verschiedene Temperaturen reagiert, untersuchten wir Leitungswasser, das wir aus 2 verschiedenen Hähnen unseres Laboratoriums dem Berliner Leitungsnetz entnahmen.

Zur genaueren Versuchsanordnung folgendes:

Voraussetzung für möglichst genaue Ergebnisse ist Arbeit unter Berücksichtigung äußerster Keimfreiheit! Wir ließen das Wasser mindestens 5 Minuten lang aus dem Leitungshahn in starkem Strahl auslaufen, um weitgehend zu vermeiden, daß die im und am Leitungshahn haftenden Bakterien mit dem Wasser eingeschwemmt wurden, füllten dann das Wasser in vorher keimfrei gemachte Gefäße (Fläschen, Erlenmeyer-Kölbchen) und schlossen diese über der Flamme. Von diesen Proben füllten wir je einen ccm Wasser in sterile Petrischalen ab. Angebracht ist es, von jeder Probe mindestens 5 Petrischalen auszugießen, um auf jeden Fall gute Mittelwerte zu erhalten, falls durch technische Fehler und Mängel der Nährflüssigkeit größere Differenzen entstehen sollten. Praktisch wertvoll ist es auch, die in die Petrischälchen einzufüllenden Wasserproben möglichst nicht zu klein zu bemessen, um leichteres und genaueres Pipettieren zu ermöglichen. Nachdem also so das Wasser in die Petrischalen gebracht worden war, gossen wir unter leichtem Schütteln der Schale die Nährflüssigkeit hinzu. Zu beachten ist dabei, daß die Nährflüssigkeit — in unseren Versuchen wurde Agar und Endo-Agar verwandt! — stets unter gleichbleibender Temperatur ausgeschüttet wird. Das erreicht man durch Messung der Temperatur mit keimfreien Thermometern. Wir gossen bei 45°—50° C aus.

Sobald der Agar bei geschlossener Schale in Zimmertemperatur fest geworden war, stellten wir die Schalen etwa eine halbe Stunde offen umgekehrt in den Brutschrank, um das Kondenswasser verdunsten zu lassen. Dann wurden die Schalen verschlossen in den Brutschrank gestellt.

Die Untersuchung wurde nun so durchgeführt, daß wir die gewachsene Kolonienzahl auszählten nach zwei-, drei- und viertägigem Aufenthalt der Schalen im Brutschrank. Eingerechnet den Tag, an dem das Wasser dem Leitungsnetz entnommen wurde, untersuchten wir an acht aufeinanderfolgenden Tagen täglich neu ausgegossene und auf den Nährboden gebrachte Wasserproben. Wir haben diese Zeitspanne gewählt, weil eine Untersuchung, die über diesen Zeitpunkt hinausgeht, praktisch nicht von Bedeutung ist. Da sich aus einem Keime bekanntlich eine Kolonie entwickelt, haben wir mit der ermittelten Zahl der Bakterien-

kulturen die Menge der im Wasser vorhandenen entwicklungsfähigen Bakterien.

Folgende Ergebnisse fanden wir bei unserer ersten Untersuchung:

1. Bei dem Wasser, das bei Zimmertemperatur acht Tage gestanden hatte, ein sehr starkes Ansteigen der Kolonienzahl in den ersten drei Tagen — wobei als erster Tag der Tag der Entnahme des Wassers aus dem Leitungsnetz gilt —, dann ein mäßiges aber ständiges in den folgenden Tagen.

2. Bei dem Wasser, das bei Brutschranktemperatur stand, ein ruckartiges, übermäßig starkes Ansteigen in den ersten drei Tagen, einen schroffen Abfall bis zu den Ausgangswerten an den folgenden und dann am siebenten und achten Tage wieder einen mäßigen Anstieg.

3. Bei dem bei Kühlschranktemperatur aufbewahrten Wasser zunächst einen Abfall, dann ein geringes Schwanken in Mittelwerten, die aber alle unter der Ausgangszahl lagen.

Bei diesem ersten Versuch haben wir außer der gewöhnlichen Kühlschranktemperatur noch eine „Unter"- und eine „Obertemperatur" ($0^0$—$2^0$ und $6^0$—$7^0$ C) gewählt, wobei wir feststellen konnten, daß die Keimzahlen bei der üblichen Kühlschranktemperatur ($2^0$—$4^0$ C) etwa in der Mitte lagen zwischen den beiden anderen Temperaturen.

Die Werte der Entnahmeproben aus den beiden verschiedenen Hähnen zeigten nur unbedeutende Unterschiede (siehe Tabellen 1, 2 und 3a—c).

Was haben uns nun diese Werte zu sagen?

Zu 1. Wasserproben, die bei Zimmertemperatur aufgestellt werden, zeigen starkes Bakterienwachstum und zwar vor allem in den ersten Tagen. Diese Tatsache ist wichtig, zeigt sie uns doch, daß schon nach kurzer Zeit bei Zimmertemperatur der Bakteriengehalt sich grundlegend zu ändern vermag.

Zu 2. Bei Brutschranktemperatur findet man ein unregelmäßiges Wachstum. Nach Erhöhung in den ersten drei Tagen kommt ein Abfall, dem wiederum am 7. bzw. 8. Tage eine Erhöhung folgt.

## Tabelle 1.
### Leitungswasser
### bei Zimmertemperatur (22° bis 24° C)

Entnahme A:

| Zählung | 1. Tag | 2. Tag | 3. Tag | 4.. Tag | 5. Tag | 6. Tag | 7. Tag | 8. Tag |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| nach 2 Tagen | 2 | 200 | 4000 | 4500 | 5000 | 8000 | 10000 | 15500 |
| nach 3 Tagen | 4 | 300 | 5500 | 6500 | 7400 | 10700 | 15000 | 17600 |
| nach 4 Tagen | 5 | 400 | 6600 | 7100 | 8600 | 12700 | 17000 | 20000 |

Entnahme B:

| Zählung | 1. Tag | 2. Tag | 3. Tag | 4.. Tag | 5. Tag | 6. Tag | 7. Tag | 8. Tag |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| nach 2 Tagen | 2 | 20 | 1000 | 1260 | 2000 | 5500 | 9000 | 11000 |
| nach 3 Tagen | 3 | 40 | 1150 | 1720 | 2140 | 7600 | 11700 | 14000 |
| nach 4 Tagen | 4 | 50 | 1300 | 2100 | 2700 | 9100 | 15300 | 18100 |

## Tabelle 2.
### Leitungswasser
### bei Brutschraktemperatur. (37° C)

Entnahme A:

| Zählung | 1. Tag | 2. Tag | 3. Tag | 4. Tag | 5. Tag | 6. Tag | 7. Tag | 8. Tag |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| nach 2 Tagen | 0 | 1500 | 2500 | 20 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| nach 3 Tagen | 1 | 1520 | 2600 | 100 | 1 | 1 | 1 | 9 |
| nach 4 Tagen | 2 | 2000 | 2650 | 100 | 2 | 2 | 2 | 25 |

Entnahme B:

| Zählung | 1. Tag | 2. Tag | 3. Tag | 4. Tag | 5. Tag | 6. Tag | 7. Tag | 8. Tag |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| nach 2 Tagen | 0 | 1300 | 2800 | 45 | 0 | 0 | 8 | 15 |
| nach 3 Tagen | 1 | 1700 | 2900 | 50 | 1 | 0 | 13 | 25 |
| nach 4 Tagen | 1 | 1800 | 3000 | 55 | 1 | 1 | 22 | 30 |

## Tabelle 3a
## Leitungswasser
## bei Kühlschranktemperatur (bei 6° bis 7° C)

Entnahme A:

| Zählung | 1. Tag | 2. Tag | 3. Tag | 4. Tag | 5. Tag | 6. Tag | 7. Tag | 8. Tag |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| nach 2 Tagen | 6 | 4 | 3 | 1 | 4 | 2 | 3 | 1 |
| nach 3 Tagen | 7 | 4 | 4 | 2 | 4 | 2 | 4 | 1 |
| nach 4 Tagen | 7 | 5 | 4 | 2 | 5 | 3 | 5 | 2 |

Entnahme B:

| Zählung | 1. Tag | 2. Tag | 3. Tag | 4. Tag | 5. Tag | 6. Tag | 7. Tag | 8. Tag |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| nach 2 Tagen | 2 | 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 1 | 1 |
| nach 3 Tagen | 4 | 3 | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 | 1 |
| nach 4 Tagen | 6 | 4 | 3 | 3 | 4 | 2 | 3 | 2 |

## Tabelle 3b
## Leitungswasser
## bei Kühlschranktemperatur (bei 0° bis 2° C)

Entnahme A:

| Zählung | 1. Tag | 2. Tag | 3. Tag | 4. Tag | 5. Tag | 6. Tag | 7. Tag | 8. Tag |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| nach 2 Tagen | 3 | 2 | 1 | 2 | 0 | 1 | 1 | 2 |
| nach 3 Tagen | 4 | 3 | 2 | 2 | 1 | 2 | 2 | 3 |
| nach 4 Tagen | 6 | 4 | 2 | 2 | 1 | 2 | 2 | 4 |

Entnahme B:

| Zählung | 1. Tag | 2. Tag | 3. Tag | 4. Tag | 5. Tag | 6. Tag | 7. Tag | 8. Tag |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| nach 2 Tagen | 2 | 2 | 2 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| nach 3 Tagen | 4 | 3 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 2 |
| nach 4 Tagen | 5 | 3 | 2 | 2 | 2 | 1 | 1 | 3 |

Tabelle 3c.
Leitungswasser
bei Kühlschranktemperatur (bei 2° bis 4° C)

Entnahme A:

| Zählung | 1. Tag | 2. Tag | 3. Tag | 4. Tag | 5. Tag | 6. Tag | 7. Tag | 8. Tag |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| nach 2 Tagen | 3 | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 |
| nach 3 Tagen | 4 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 3 | 2 |
| nach 4 Tagen | 6 | 4 | 3 | 2 | 3 | 3 | 4 | 3 |

Entnahme B:

| Zählung | 1. Tag | 2. Tag | 3. Tag | 4. Tag | 5. Tag | 6. Tag | 7. Tag | 8. Tag |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| nach 2 Tagen | 2 | 2 | 1 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 |
| nach 3 Tagen | 4 | 3 | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 | 2 |
| nach 4 Tagen | 6 | 4 | 3 | 3 | 3 | 2 | 3 | 3 |

Zu 3. Bei Kühlschranktemperatur sehen wir bei leicht schwankendem Wachstum im ganzen eine Tendenz zum Abfallen der Keimzahlen.

Dieses letzte Ergebnis ist besonders interessant. Es unterstreicht die bekannte Ansicht, daß die Bakterienflora im Trinkwasser, solange sie bei niedrigen Temperaturen gehalten wird, sich nicht wesentlich verändert. So empfiehlt Kronlik 1927, bei Versendung von Wasserproben zur bakteriologischen Untersuchung die Fläschchen in zylindrische Blechgefäße mit 2 Wandungen zu stellen, deren Zwischenraum mit Ammoniumnitrat als Kühlstoff gefüllt ist. Es erweitert diese Erfahrung aber auch insofern, als bei niedrigen Temperaturen ein Absterben von Wasserkeimen einzutreten scheint. Bei Wasserproben also, die tagelang bei Kühlschranktemperatur aufbewahrt werden, ist mit einer geringeren Keimzahl zu rechnen als bei den frisch entnommenen Wasserproben. Eine Beschränkung auf die Untersuchung des Wachstums der gewöhnlichen, im Lei-

tungswasser vorkommenden Bakterien würde nur einen unvollständigen Einblick in die tatsächlichen Verhältnisse, wie sie uns interessieren, geben. Deshalb untersuchten wir nach diesen Vorversuchen das Wachstum von Colibakterien in Trinkwasserproben unter verschiedenen Temperaturbedingungen. Wir wählten zwei Kulturmedien:

1. Im Autoklaven keimfrei gemachtes Wasser.
2. Wasser, das in derselben Weise, wie oben beschrieben, dem Berliner Leitungsnetz entnommen wurde.

Diese Trinkwasserproben impften wir mit bekannten Mengen einer Coli-Kultur, wobei wir im einzelnen folgendermaßen vorgingen:

Wir legten uns eine Kultur von Colibakterien auf Schrägager an und bebrüteten diese 24 Stunden lang. Nach dieser Zeit schwemmten wir diese Kultur mit 15 ccm NaCl ab. Von dieser Abschwemmung entnahmen wir mit keimfreier Pipette 0,1 ccm und brachten sie in 1000 ccm keimfreies Wasser. Es wurde dadurch eine Verdünnung 1 : 10 000 erreicht. Es stellte sich nun aber heraus, daß diese Verdünnung noch so gering war, daß eine einigermaßen genaue Zählung nicht — selbst nicht unter dem Zählapparat nach Wolfshügel! — gewährleistet war. Wir verdünnten deshalb weiter und kamen schließlich zu einem Verhältnis von 1 : 20 000 000. Um nun eine leicht mögliche Fehlerquelle beim Pipettieren dieser starken Verdünnung auszuschließen, verdünnten wir zunächst, wie oben, auf 1 : 10 000. Zu berücksichtigen war dabei, daß das Verdünnungsmedium keimfreies Wasser war, und daß das Abpipettieren daher sorgfältig unter Berücksichtigung aller Vorsichtsmaßregeln geschehen mußte. Von diesem Verdünnungsmedium wurden dann nochmals 0,1 ccm mit der Pipette abgenommen und in 200 ccm Wasser gebracht. Dadurch hatten wir die gewünschte Verdünnung 1: 20 000 000 erlangt. Zwar sind geringe Fehler auch bei dieser Methode nicht immer zu vermeiden, doch nahmen wir diese in Kauf gegenüber den bestimmt größeren Fehlerquellen beim Herstellen der Verdünnung in einem Gang. Da die Fehlergrenze bei allen Versuchen die gleiche blieb — durch Kontrollversuche überzeugten wir uns davon, daß die Anfangswerte sich nicht wesentlich unterschieden —, konnten wir sie entgegennehmen, ohne sie näher zu berücksichtigen.

Eine viel größere Schwierigkeit, die sich erst während der Versuche herausstellte, war die Tatsache, daß der zunächst benutzte Coli-Stamm nicht wasserresistent war. Wir standen also vor der Aufgabe, für unsere Versuche einen für Wasser widerstandsfähigen Coli-Stamm zu züchten.. Das wurde dadurch erreicht, daß die Coli-Kultur in keimfreies Wasser geimpft wurde. Nach 24 Stunden wurde von diesem Wasser 1 ccm auf Endo-Agar gebracht. Nach 24-stündiger Bebrütung wurde von diesem erneut keimfreies Wasser beimpft und so fort. Dieser ständige Wechsel vom Nährboden zum Wasser, der über acht Tage durchgeführt wurde, machte schließlich den Stamm so widerstandsfähig, daß man praktisch von wasserresistenten Colibakterien sprechen konnte. Mit diesem Coli-Stamm wurden nun alle folgenden Versuche durchgeführt.

Um einerseits bei dem keimfrei gemachten Wasser eine gute Kontrolle der Versuche zu haben, andererseits bei dem Leitungswasser, bei dem wir außer mit den Colibakterien auch noch mit den nicht krankheitserregenden Bakterien des Wassers rechnen mußten, das unterschiedliche Wachstum überblicken zu können, gossen wir unsere Wasserproben auf zwei verschiedene Nährböden aus und zwar auf Agar und den spezifischem Nährboden für Coli, auf Endo-Agar.

Als Temperaturwerte wählten wir wiederum die Brutschranktemperatur (37 ° C), Zimmertemperatur (22—24 ° C) und Kühlschranktemperatur (2—4 ° C). Die Ergebnisse der Versuche mit dem im Autoklaven keimfrei gemachten und nachher mit dem Coli-Stamm beimpften Wasser lassen sich, wie folgt, zusammenfassen:

a) bei Brutschranktemperatur: in den ersten drei Tagen schneller Abfall der Keimzahlen, der sich in den folgenden bis zum vollständigen Absterben der Kulturen fortsetzt.

b) bei Zimmertemperatur: in den ersten vier Tagen Anstieg, dann ein ebenso starker Abfall der Keimzahlen bis unter den Ausgangswert.

c) bei Kühlschranktemperatur: unter geringen Schwankungen langsamer Rückgang der Keimzahlen bis unter die Ausgangswerte (siehe Tabellen 4a—c).

Tabelle 4a.
Mit Coli beimpftes, vorher sterilisiertes Wasser bei Brutschranktemperatur.

Agar:

| Zählung | 1. Tag | 2. Tag | 3. Tag | 4. Tag | 5. Tag | 6. Tag | 7. Tag | 8. Tag |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| nach 2 Tagen | 35 | 15 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| nach 3 Tagen | 40 | 23 | 4 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| nach 4 Tagen | 45 | 28 | 5 | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 |

Endo-Agar:

| Zählung | 1. Tag | 2. Tag | 3. Tag | 4. Tag | 5. Tag | 6. Tag | 7. Tag | 8. Tag |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| nach 2 Tagen | 30 | 15 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| nach 3 Tagen | 35 | 18 | 3 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| nach 4 Tagen | 39 | 20 | 4 | 3 | 2 | 1 | 0 | 0 |

Tabelle 4b.
Mit Coli beimpftes, vorher sterilisiertes Wasser bei Zimmertemperatur.

Agar:

| Zählung | 1. Tag | 2. Tag | 3. Tag | 4. Tag | 5. Tag | 6. Tag | 7. Tag | 8. Tag |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| nach 2 Tagen | 30 | 60 | 65 | 80 | 40 | 15 | 7 | 3 |
| nach 3 Tagen | 45 | 70 | 85 | 90 | 50 | 25 | 12 | 4 |
| nach 4 Tagen | 60 | 80 | 90 | 100 | 60 | 30 | 15 | 5 |

Endo-Agar:

| Zählung | 1. Tag | 2. Tag | 3. Tag | 4. Tag | 5. Tag | 6. Tag | 7. Tag | 8. Tag |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| nach 2 Tagen | 30 | 50 | 55 | 70 | 75 | 35 | 10 | 2 |
| nach 3 Tagen | 40 | 60 | 70 | 80 | 85 | 45 | 15 | 4 |
| nach 4 Tagen | 50 | 70 | 80 | 90 | 90 | 50 | 20 | 5 |

Tabelle 4c.

Mit Coli beimpftes, vorher sterilisiertes Wasser bei Kühlschranktemperatur.

Agar:

| Zählung | 1. Tag | 2. Tag | 3. Tag | 4. Tag | 5. Tag | 6. Tag | 7. Tag | 8. Tag |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| nach 2 Tagen | 30 | 30 | 30 | 30 | 28 | 25 | 35 | 25 |
| nach 3 Tagen | 40 | 35 | 35 | 35 | 35 | 30 | 38 | 30 |
| nach 4 Tagen | 50 | 38 | 40 | 39 | 37 | 33 | 39 | 32 |

Endo-Agar:

| Zählung | 1. Tag | 2. Tag | 3. Tag | 4. Tag | 5. Tag | 6 Tag | 7. Tag | 8. Tag |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| nach 2 Tagen | 25 | 20 | 30 | 35 | 25 | 23 | 30 | 20 |
| nach 3 Tagen | 35 | 25 | 35 | 38 | 30 | 25 | 33 | 23 |
| nach 4 Tagen | 40 | 28 | 40 | 39 | 35 | 28 | 35 | 27 |

Wesentliche Unterschiede in den einzelnen Werten auf den beiden verschiedenen Nährböden bestanden nicht.

Unsere Versuche vermitteln uns also folgendes wichtiges Resultat: Colibakterien vermehren sich auf die Dauer in keimfrei gemachtem Wasser nicht. Keimfrei gemachtes Wasser ist demnach ein schlechtes Kulturmedium für Colibakterien, selbst bei für Bakterien optimaler Umgebungstemperatur von 37° C. Interessant ist das Ansteigen der Werte in den ersten vier Tagen bei Zimmertemperatur, welche die Lebenskraft der einzelnen Keime anscheinnd nicht so schnell aufzehrt wie die Temperatur von 37° C.

Wesentlich andere Ergebnisse fanden wir bei den Versuchen, bei denen wir die uns bekannte Menge von Colibakterien in das Wasser impften, daß wir aus dem Leitungsnetz entnommen hatten.

a) bei Brutschranktemperatur sahen wir bei den Proben, die auf Endo-Agar ausgegossen waren, einen ständigen Abfall der Zahlenwerte bis zum schließlichen Absterben der Bakterien. Bei den Proben, die wir nach Ausgießen

auf Agar untersuchten, sahen wir bis zum dritten Tage einen Anstieg, dann bis zum sechsten Tage einen starken Abfall und schließlich einen erneuten Anstieg bis ungefähr zu den Ausgangswerten.

b) bei den in Zimmertemperatur aufbewahrten Proben fanden wir auf Endo-Agar zunächst einen Anstieg der Zahlenwerte bis zum fünften Tage, danach einen Abfall bis unter die Ausgangswerte, auf Agar dagegen ein ständiges Ansteigen der Werte.

c) bei Kühlschranktemperatur langsamer Abfall der Zahlenwerte bis zum vollständigen Absterben der Kulturen, dabei allerdings anfangs auch geringe Schwankungen wie bei dem vorher im Autoklaven sterilisierten Wasser (siehe Tabellen 5a—c).

Tabelle 5a.
Mit Coli beimpftes Leitungswasser bei
Brutschranktemperatur.

Agar:

| Zählung | 1. Tag | 2. Tag | 3. Tag | 4. Tag | 5. Tag | 6. Tag | 7. Tag | 8. Tag |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| nach 2 Tagen | 18 | 30 | 28 | 4 | 1 | 0 | 12 | 14 |
| nach 3 Tagen | 34 | 42 | 50 | 7 | 2 | 1 | 25 | 29 |
| nach 4 Tagen | 46 | 55 | 60 | 9 | 3 | 1 | 28 | 44 |

Endo-Agar:

| Zählung | 1. Tag | 2. Tag | 3. Tag | 4. Tag | 5. Tag | 6. Tag | 7. Tag | 8. Tag |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| nach 2 Tagen | 15 | 12 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| nach 3 Tagen | 30 | 23 | 12 | 7 | 5 | 1 | 0 | 0 |
| nach 4 Tagen | 45 | 34 | 23 | 11 | 7 | 3 | 0 | 0 |

## Tabelle 5b.
## Mit Coli beimpftes Leitungswasser bei Zimmertemperatur.

Agar:

| Zählung | 1. Tag | 2. Tag | 3. Tag | 4. Tag | 5. Tag | 6. Tag | 7. Tag | 8. Tag |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| nach 2 Tagen | 35 | 40 | 50 | 58 | 60 | 71 | 82 | 90 |
| nach 3 Tagen | 40 | 45 | 55 | 64 | 73 | 80 | 91 | 100 |
| nach 4 Tagen | 45 | 50 | 60 | 68 | 78 | 88 | 98 | 110 |

Endo-Agar:

| Zählung | 1. Tag | 2. Tag | 3. Tag | 4. Tag | 5. Tag | 6. Tag | 7. Tag | 8. Tag |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| nach 2 Tagen | 38 | 45 | 55 | 55 | 70 | 25 | 20 | 13 |
| nach 3 Tagen | 42 | 50 | 60 | 65 | 75 | 33 | 23 | 16 |
| nach 4 Tagen | 45 | 53 | 63 | 68 | 78 | 38 | 25 | 18 |

## Tabelle 5c.
## Mit Coli beimpftes Leitungswasser bei Kühlschranktemperatur.

Agar:

| Zählung | 1. Tag | 2. Tag | 3. Tag | 4. Tag | 5. Tag | 6. Tag | 7. Tag | 8. Tag |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| nach 2 Tagen | 35 | 15 | 15 | 13 | 12 | 0 | 0 | 0 |
| nach 3 Tagen | 45 | 18 | 25 | 25 | 17 | 1 | 1 | 1 |
| nach 4 Tagen | 50 | 20 | 33 | 28 | 22 | 1 | 1 | 1 |

Endo-Agar:

| Zählung | 1. Tag | 2. Tag | 3. Tag | 4. Tag | 5. Tag | 6. Tag | 7. Tag | 8. Tag |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| nach 2 Tagen | 20 | 15 | 18 | 13 | 8 | 5 | 0 | 0 |
| nach 3 Tagen | 34 | 27 | 20 | 17 | 12 | 7 | 1 | 0 |
| nach 4 Tagen | 48 | 40 | 23 | 20 | 15 | 8 | 2 | 0 |

Was zeigen uns nun diese Versuchsergebnisse, und wie sind die verschiedenen Werte auf den beiden Nährböden zu erklären?

Die Werte die wir auf Endo-Agar erhielten, erscheinen verständlich, entsprechen sie doch denen, die wir bei den Versuchen mit im Autoklaven sterilisiertem Wasser erhielten. Das ist einleuchtend, weil auf dem Coli-Spezialnährboden fast nur die Colibakterien gedeihen.

Die Werte auf normalem Agar dagegen zeigen ein Bild entsprechend unseren Untersuchungsergebnissen mit Leitungswasser, das wir dem Berliner Leitungsnetz entnahmen, ein Bild also, das von dem Verhalten der gewöhnlichen Wasserbakterien bestimmt wird:

a) bei Brutschranktemperatur einige Tage Anstieg, dann schroffen Abfall und schließlich erneuten Anstieg der Kulturen,

b) bei Zimmertemperatur ein ständiges Ansteigen der Kulturenwerte,

c) bei Kühlschranktemperatur unter geringen Schwankungen langsames Absterben der Kulturen.

Diese Versuchsreihe bei Kühlschranktemperatur bestätigt unser bisheriges Ergebnis, daß Trinkwasserproben die bei Kühlschranktemperatur aufbewahrt werden, sich niemals für längere Zeit auf dem anfänglichen Bakteriengehalt zu halten vermögen.

Unsere sämtlichen Versuche führten außerdem zu der bereits bekannten Feststellung, daß die Bakterienzahl nicht bereits am ersten oder zweiten Tage, nachdem das Material auf den Nährböden gebracht worden ist, endgültig abgelesen werden kann, sondern daß innerhalb von vier Tagen noch eine Zunahme der Kolonien auf dem Nähboden stattfindet.

Ferner fiel uns bei unseren Versuchen auf, daß wir besonders bei der für Bakterienwachstum günstigen Brutschranktemperatur, in nicht so starkem Maße auch bei den anderen Temperaturen ein wechselndes Wachstum vorwiegend der gewöhnlichen Wasserkeime sehen. Nach unserer Ansicht stehen wir hier vor einem Kampf im Reiche der Mikroorganismen und zwar vor einem Kampfe der „Thermophilen", der wärmeliebenden, mit den kälteliebenden

den Bakterien, den „Frigophilen", bei dem abwechselnd entsprechend der schnelleren Anpassungsfähigkeit der einzelnen Gruppen einmal die „Thermophilen", dann wieder die „Frigophilen" die Oberhand gewinnen. Auf jeden Fall erscheint es bemerkenswert, daß unter gleichbleibenden äußeren Einflüssen zunächst ein Anwachsen der Kulturenzahl zu beobachten ist, daß dann ein ebenso starkes Abfallen folgt, was schließlich abgelöst wird von einem erneuten Ansteigen.

Unsere Aufgabe wäre mit diesen Versuchsergebnissen zwar als gelöst zu betrachten, doch um uns zu vergewissern, ob unsere Versuche bei praktisch vorkommenden Untersuchungen ähnliche Ergebnisse zeitigen, untersuchten wir noch Wasser, das wir aus der Spree entnahmen. Unter Wasser öffneten wir ein sterilisiertes Gefäß, hielten die Oeffnung der Stromrichtung entgegen und schlossen es sofort wieder. Bei einer Entnahme, bei der wir wasserresistente Colibakterien fanden, erhielten wir dieselben Ergebnisse bei den verschiedenen Temperaturen wie bei den Versuchen, wo wir bekannte Mengen Coli verimpft hatten.

## Zusammenfassung.

1. In Wasserproben, die bei Zimmertemperatur aufbewahrt werden, zeigen die gewöhnlichen Wasserkeime ein ständiges Wachstum, die Colibakterien ein Absterben.

2. In bei Brutschranktemperatur aufbewahrten Wasserproben zeigen gewöhnliche Wasserbakterien ein wechselndes Wachstum mit der allgemeinen Neigung zur Erhöhung der Keimzahlen, Colibakterien auch hier ein Absterben.

3. Kühlschranktemperatur führt bei Wasserkeimen und bei Colibakterien zum Absterben der Kulturen.

Unsere Versuche zeigten also, was Caldwell und Leland auch schon gefunden hatten, daß Colibakterien in Wasserproben, gleichgültig, bei welcher Temperatur diese gehalten werden, in ihrer Lebensfähigkeit geschädigt werden. Man kann also aus Trinkwasserproben, die erst längere Zeit nach der Entnahme untersucht werden, keine Schlüsse ziehen auf den wahren Bakteriengehalt des Wassers. Von einem ähnlichen Ergebnis berichtet auch Fred Berry.

Im Gegensatz hierzu sehen wir, daß niedrige Aufbewahrungstemperaturen für Wasserproben am günstigsten sind, wie dies auch Takabatake festgestellt hat. Anzustreben ist aber auch da, Wasserproben so schnell wie möglich der Untersuchung auf ihren Keimgehalt zuzuführen, weil nach unseren Versuchen längeres Aufbewahren bei niedrigen Temperaturen zu einem Absterben von Wasserkeimen und Colibakterien führen kann und dadurch ein niedrigerer Keimgehalt vorgetäuscht wird, als tatsächlich bei der Entnahme vorhanden war. Hierdurch aber können Fehlbeurteilungen entstehen.

Ich möchte nicht versäumen, Herrn Oberstarzt Dr. med. Brekenfeld gehorsamst zu danken für die Unterstützung bei dieser Arbeit und für Ueberlassung des Arbeitsplatzes in der von ihm geleiteten Abteilung der Militärärztlichen Akademie.

## Schrifttum:


I. Aus dem „Zentralblatt für die gesamte Hygiene und ihre Grenzgebiete".

1) Band 30, Seite 20.

Caldwell, Elfreda L., and Leland, W. Parr: Present status of handling water samples. Comparison of bacteriological analyses under varying temperature and holding conditions with special reference to the direct method.

2) Band 35, Seite 255.

Takabatake, Y.: Hygienische Studie des Wasservorrats. Ueber den Einfluß von Vorratstemperatur auf die Wasseranalyse.

II. Aus dem „Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten".

A. Abteilung Originale.

1) Band 33, Seite 746.

Bertarelli, E.: Ueber die Technik, die Konservation und den Transport der zur bakteriologischen Analyse bestimmten Wasserproben mittels frigoferer Mischungen.

2) Band 44, Seite 91.

Fulton, John, S., and Stokes: Adescription of some convenient labory devices.

B. Abteilung Referate.

1) Band 86, Seite 281.

Berry, Fred: Studies on lactose fermenting bacteria.

2) Band 90, Seite 140.

Kronlik, A.: Zum Thema: Trinkwasseranalysen.

3) Band 125, Seite 409.

Bigger, Joseph W.: The growth of coliform bacilli in water.

## Lebenslauf:

Ich, Karlheinz Kinscher, wurde am 21. April 1914 als Sohn des damaligen Marine-Stabsapothekers Dr.. phil. Max Kinscher und seiner Gattin Alwine, geb. Jung, in Wilhelmshaven geboren. Nach Besuch des Kaiser-Wilhelms-Gymnasiums in Wilhelmshaven bestand ich dort am 1. März 1933 die Reifeprüfung. Nach Studium an den Universitäten Greifswald, Würzburg und Berlin absolvierte ich hier im Jahre 1938 das medizinische Staatsexamen mit der Gesamtnote „gut". Meine Bestallung als Arzt datiert vom 20. September 1939. Am 1. April 1933 wurde ich bei der Kriegsmarine angenommen als Marinesanitätsoffizieranwärter. Seit dem 1. September 1939 bin ich Marineassistenzarzt, z. Zt. kommandiert als Batteriearzt zu einer Mar.-Flakabteilung.